QUANTA Flash™ DGP Screen **701113**

Para uso diagnóstico *In Vitro*

Uso previsto

El QUANTA Flash DGP Screen es un inmunoensayo por quimioluminiscencia (CIA) para la detección semicuantitativa de anticuerpos IgG e IgA anti-DGP (péptidos de gliadina desamidada) en suero humano en el instrumento BIO-FLASH®. Junto con los resultados de la exploración física y otras pruebas de laboratorio, puede ayudar a diagnosticar la enfermedad celíaca y de la dermatitis herpetiforme.

Resumen y explicación de la prueba

La celiaquía o enfermedad celíaca (EC) es una enteropatía por sensibilidad al gluten cuyas características principales son inflamación y un típico aplanamiento histológico de la mucosa intestinal que provoca un síndrome de malabsorción. La etiología exacta de la celiaquía es aún desconocida, pero la gliadina (la fracción soluble en alcohol del gluten del trigo) es claramente el agente tóxico.[1,2] Según los estudios realizados, la EC tiene una prevalencia del 0,7% al 1,0% en la población general, cifra que se eleva hasta el 20% en algunas poblaciones de riesgo.[3,4]

Originalmente, se utilizaban una serie de biopsias intestinales múltiples para diagnosticar la enfermedad celíaca y los trastornos relacionados. Más recientemente, la Sociedad Europea de Gastroenterología Pediátrica y Nutrición (ESPGAN)[5] y diversos otros estudios publicados[6-8] han recomendado el uso de marcadores serológicos, como los anticuerpos anti-gliadina, anti-DGP, anti-tTG y anti-endomisio, con el fin de reducir el número de biopsias intestinales necesarias para realizar un diagnóstico.

Recientes estudios han revelado que los anticuerpos de los pacientes celíacos se unen a un número muy pequeño de epítopos específicos de la molécula de gliadina que se han desamidado de forma selectiva.[9-11] Se considera que la desamidación está provocada por la enzima asociada a la enfermedad celíaca, la transglutaminasa tisular.[12] Basándose en las anteriores observaciones, se han desarrollado análisis que utilizan péptidos de gliadina desamidados específicos. Consiguen una mayor exactitud en el diagnóstico de la enfermedad celíaca que los análisis anti-gliadina habituales.[7,13-16]

Una estrategia de detección sensible para detectar personas con enfermedad celíaca en poblaciones de riesgo comprende el análisis de anticuerpos IgG e IgA contra péptidos de gliadina desamidados ya que una proporción considerable de pacientes celíacos presentan deficiencia de IgA.[14] Varios estudios han demostrado la elevada utilidad clínica de esta estrategia de análisis.[17,13-16]

La dermatitis herpetiforme (DH) es una enfermedad de la piel que, al igual que la enfermedad celíaca, está provocada por la ingesta de proteínas del trigo. La mayoría de los pacientes con DH presentan una atrofia de las vellosidades intestinales del yeyuno idéntica a la encontrada en la enfermedad celíaca, y una dieta estricta sin gluten mejora tanto las lesiones intestinales como cutáneas.[18,19] Los métodos serológicos actuales, como los ensayos EMA y tTG tienen un rendimiento muy pobre cuando se utilizan en la DH, con sensibilidades que van entre el 45% y el 75%[18-20], en comparación con la sensibilidad del 95% o superior que muestran para la enfermedad celíaca. Un estudio ha revelado que los anticuerpos anti-DGP son más habituales que los anticuerpos anti-tTG en los pacientes con DH.[20]

El QUANTA Flash DGP Screen es una prueba con rendimiento mejorado para la detección de anticuerpos IgA e IgG contra un péptido sintético desamidado selectivamente, derivado de la proteína del trigo gliadina y que permite la detección de la enfermedad celíaca incluso si coexiste una deficiencia de IgA.

Principios del procedimiento

Se recubren con péptido de gliadina desamidada sintética partículas de látex paramagnéticas que se guardan en el cartucho de reactivos en unas condiciones que mantienen el antígeno en su estado reactivo. Cuando el cartucho de análisis está preparado para ser utilizado por primera vez, se invierte varias veces todo el cartucho para mezclar completamente los reactivos. A continuación, se coloca el cartucho de reactivos en el instrumento BIO-FLASH.

Mediante el instrumento se prediluye una muestra de suero de paciente utilizando líquido de lavado del sistema añadido a una cubeta de plástico desechable. Se combinan en una segunda cubeta y se mezclan pequeñas cantidades del suero de paciente diluido, las partículas de DGP y el tampón de análisis. Esta cubeta se incuba a 37°C y, después, los lechos se magnetizan y se lavan varias veces. A continuación, se añade anticuerpo conjugado con isoluminol a la cubeta y esta se incuba a 37°C. De nuevo, las partículas se magnetizan y se lavan repetidamente. El conjugado de isoluminol produce una reacción luminiscente al añadir a la cubeta los reactivos («iniciadores»). La luz emitida por la reacción se mide como unidades relativas de luz (RLU) mediante el sistema óptico del BIO-FLASH. El número de RLU es proporcional a la cantidad de conjugado de isoluminol ligado, que a su vez es proporcional a la cantidad de anticuerpos anti-DGP unidos al DGP en las partículas.

El ensayo QUANTA Flash DGP Screen utiliza una curva maestra predefinida específica para cada lote que se carga en el instrumento mediante el código de barras del cartucho de reactivos. De acuerdo con los resultados del análisis de dos calibradores, se crea una curva de trabajo específica para el instrumento que se usa para calcular las unidades de quimioluminiscencia (CU) a partir de las RLU obtenidas con cada paciente.

Reactivos

El cartucho de reactivos del QUANTA Flash DGP Screen contiene los reactivos siguientes para 50 análisis:

1. Partículas paramagnéticas recubiertas de DGP, en un tampón que contiene líquido, estabilizantes de proteínas y conservante.
2. Tampón de análisis, de color rosa, que contiene solución salina tamponada con Tris, Tween 20, estabilizantes de proteínas y conservantes.
3. IgA/IgG trazadora: anticuerpos anti-IgG y anti-IgA humana marcada con isoluminol que contiene tampón, estabilizantes de proteínas y conservante.

Advertencias

1. El tampón del ensayo contiene una sustancia química (cloranfenicol al 0,02%) que está clasificada como cancerígena por el Estado de California.
2. Se utiliza azida sódica como conservante. La azida sódica es una sustancia venenosa y puede resultar tóxica si se ingiere o si se absorbe a través de la piel o los ojos. La azida sódica puede reaccionar con el plomo o el cobre de las tuberías y formar azidas metálicas potencialmente explosivas. Si utiliza las pilas de lavado para eliminar reactivos, aclare con abundante cantidad de agua para evitar la formación de azidas metálicas.
3. Utilice un equipo de protección personal adecuado cuando trabaje con los reactivos suministrados.
4. Los vertidos de reactivos deben limpiarse inmediatamente. Cumpla todas las normas estatales y locales sobre protección del medio ambiente para la eliminación de residuos.

Precauciones

1. Este producto está destinado a uso diagnóstico *In Vitro*.
2. Este ensayo solo debe utilizarse con el instrumento BIO-FLASH.
3. Una vez abierto, el cartucho de reactivos debe almacenarse en la bandeja de reactivos del instrumento. La colocación del cartucho de reactivos en el instrumento por primera vez debe realizarse con todo cuidado para no verter los reactivos.
4. Puede producirse contaminación química de los reactivos como consecuencia de un lavado o aclarado inadecuados del instrumento. Los residuos de sustancias químicas habituales en los laboratorios, como formol, lejía, etanol o detergente, pueden interferir en el análisis. Asegúrese de limpiar siempre el instrumento según el procedimiento recomendado, que está indicado en el manual del operador del BIO-FLASH.

Condiciones de almacenamiento

1. Guarde los cartuchos de reactivos no abiertos a 2-8°C. No los congele. Los reactivos permanecen estables hasta la fecha de caducidad si se almacenan y manipulan como está indicado.
2. Los cartuchos de reactivos abiertos deben guardarse cargados en el instrumento y permanecen estables durante 63 días; tras este período, deben desecharse. El software BIO-FLASH supervisa las fechas de caducidad de los cartuchos cargados, así como las de los lotes de cartuchos de reactivos.

Recogida de muestras

Este procedimiento debe realizarse con una muestra de suero. No deben utilizarse muestras que estén contaminadas con microorganismos, que hayan recibido un tratamiento a base de calor o que contengan partículas visibles. Las muestras que contenían hasta 10 mg/dL de bilirrubina, 200 mg/dL de hemoglobina, 1.000/224 mg/dL de triglicéridos/colesterol o 500 UI/mL de IgM de factor reumatoide no presentaron interferencia en el QUANTA Flash DGP Screen. No debe utilizarse suero muy hemolizado ni suero ictérico.

Tras la recogida, el suero debe separarse del coágulo. El documento H18-A3 del CLSI recomienda las siguientes condiciones de almacenamiento de muestras: 1) No guarde las muestras a temperatura ambiente durante más de 8 horas. 2) Si el análisis no se efectúa en un plazo de 8 horas, refrigere las muestras a 2-8°C. 3) Si el análisis no va a realizarse en un plazo de 48 horas o si debe preparar las muestras para enviarlas, congélelas a una temperatura de -20°C o inferior. Las muestras congeladas deben mezclarse bien después de descongelarse y antes del análisis.

Procedimiento

Materiales suministrados

1 Cartucho de reactivos QUANTA Flash DGP Screen

Materiales adicionales necesarios no suministrados

Instrumento BIO-FLASH con ordenador para manejarlo

Líquido de lavado del sistema BIO-FLASH (número de componente: 3000-8205)

Iniciadores BIO-FLASH (número de componente: 3000-8204)

Cubetas BIO-FLASH (número de componente: 3000-8206)

Solución de limpieza BIO-FLASH (número de componente: 3000-8211)

Calibradores QUANTA Flash DGP Screen (número de componente: 701111)

Controles QUANTA Flash DGP Screen (número de componente: 701112)

Uso del analizador por quimioluminiscencia BIO-FLASH

1. Consulte el manual del operador suministrado con el sistema BIO-FLASH para obtener instrucciones de funcionamiento detalladas sobre el analizador por quimioluminiscencia BIO-FLASH y el software BIO-FLASH. Para obtener más información o solucionar problemas relativos al ensayo, póngase en contacto con el servicio técnico de INOVA Diagnostics, Inc., en la dirección o número de teléfono indicados al final de estas instrucciones de uso.

2. Para vaciar el recipiente de residuos sólidos, abra el cajón de residuos. Extraiga el recipiente de residuos sólidos y tire las cubetas usadas de forma adecuada. Vuelva a colocar el recipiente de residuos sólidos en su lugar, cierre el cajón de residuos y haga clic en **Sí** en la ventana **Vaciar cajón de residuos**.

3. Para sustituir los iniciadores, haga clic en el botón **Inventario de volúmenes F9**, situado en la parte superior derecha.

   a. En la pantalla **Inventario – Volúmenes**, haga clic en el botón **Iniciadores** situado a la izquierda. Se abrirá la ventana **Añadir iniciadores – Retirar frascos viejos.**

   b. Abra y retire el cajón de residuos del instrumento BIO-FLASH. Tire todas las cubetas en el cajón de residuos secos. Haga clic en **Sí** en la ventana **Vaciar cajón de residuos**. Retire los frascos del iniciador de sus soportes y haga clic en el botón **Siguiente**. Desenrosque los frascos viejos del iniciador de sus tapones y sustitúyalos por nuevos iniciadores. Realice la operación frasco a frasco y respete el código de color de los tapones (blanco-blanco, rojo-rojo).

   c. Siga las instrucciones de la ventana que se abrirá, **Añadir iniciadores – Añadir frasco del iniciador 2.** Una vez aceptado el código de barras, coloque el iniciador 2 en el soporte de color blanco. Haga clic en **Siguiente**.

   d. Siga las instrucciones de la ventana **Añadir iniciadores – Añadir frasco del iniciador 1.** Una vez aceptado el código de barras, coloque el iniciador 1 en el soporte de color rojo. Haga clic en **Finalizar.** Vuelva a colocar el cajón de residuos en su lugar y ciérrelo.

4. Para sustituir el recipiente de líquido de lavado del sistema, haga clic en el botón **Inventario de volúmenes F9**, en la esquina superior derecha. En la pantalla **Inventario – Volúmenes**, haga clic en el botón **Lavado del sistema**. En la ventana que se abrirá, **Añadir líquido de lavado – Retirar frascos**, haga clic en **Siguiente.** Siga las instrucciones de la ventana que aparecerá, **Añadir líquido de lavado – Añadir frasco.** Una vez aceptado el código de barras, haga clic en **Finalizar**, si es necesario.

5. Para vaciar el recipiente de residuos líquidos, en la pantalla **Inventario – Volúmenes** haga clic en el botón **Residuo líquido**. Extraiga el residuo líquido y tírelo. Haga clic en **Siguiente**. Una vez sustituido el frasco vacío, haga clic en **Finalizar**.

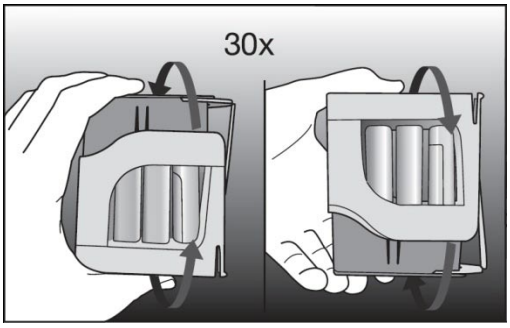
Método

Preparación del cartucho de reactivos

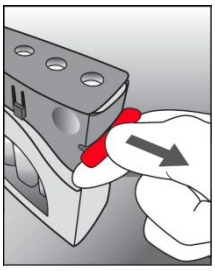
La primera vez que se utilice el cartucho de reactivos, se deben seguir los pasos siguientes para instalar el cartucho con precisión en el instrumento BIO-FLASH. Nota: no utilice el cartucho de reactivos si observa cualquier signo de que está dañado.

Cartucho de reactivos QUANTA Flash DGP Screen: Durante el envío y el almacenamiento, las micropartículas se depositan y es preciso mezclarlas para volver a suspenderlas.

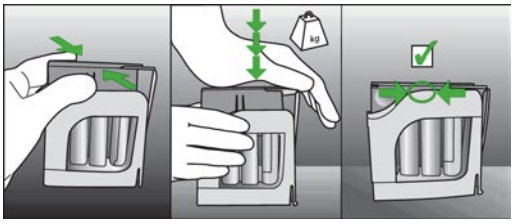
1. La primera vez que se utiliza el cartucho, invierta suavemente el cartucho 30 veces, evitando la formación de espuma. Compruebe la resuspensión completa de las micropartículas. Si las micropartículas no se han resuspendido completamente, siga invirtiendo el cartucho hasta que se termine la resuspensión. Si las micropartículas no se resuspenden, NO UTILICE EL CARTUCHO.



2. Una vez que se han resuspendido las micropartículas, coloque el cartucho de reactivos sobre una superficie sólida para retirar la anilla roja. Con una mano, sostenga el cartucho de reactivos en su lugar. Con la otra mano, agarre con fuerza la anilla roja de la parte posterior del cartucho de reactivos y tire de ella completamente.



3. Pulse las dos pestañas laterales del tapón de perforación (parte gris) y aplique presión a la parte superior del cartucho de reactivos hasta que descienda y alcance un tope. Las pestañas deberían quedar ocultas. NO INVIERTA EL CARTUCHO ABIERTO.



4. Coloque con cuidado el cartucho de reactivos en cualquier ranura abierta del carro de reactivos del instrumento BIO-FLASH. Cuando el cartucho esté colocado en el carro de reactivos, el instrumento realizará una mezcla periódica adicional de los lechos.

Calibración del ensayo

1. Cada nuevo lote de cartucho de reactivos debe calibrarse antes del primer uso. El software no permitirá usar un lote nuevo hasta que se calibre.
2. Consulte el apartado **Calibradores QUANTA Flash™ DGP Screen (701111)** de este documento para obtener instrucciones de uso detalladas sobre cómo calibrar el cartucho de reactivos.
3. Una vez validada la calibración, el lote de cartuchos de reactivos en el que se ha efectuado la calibración estará preparado para utilizarse.

Programación y análisis de muestras

1. Pulse el botón **Lista de trabajo** de la parte superior de la pantalla y seleccione la pestaña **Gradillas** de la parte inferior.
2. Seleccione la gradilla de muestras que se utilizará marcándola en la pantalla o escaneando su código de barras con el lector manual de códigos de barras. Escanee o escriba el nombre de la muestra, indique el tipo de muestra, elija el tipo de recipiente (tubo/copa) y seleccione DGP Screen en el panel del ensayo. Repita estos pasos para todas las muestras.
3. Cargue las muestras en las posiciones seleccionadas de la gradilla de muestras y coloque la gradilla en el carro de muestras del instrumento.
4. Cuando todos los materiales necesarios estén cargados en el instrumento, el icono de inicio pasará a estar disponible, en color verde, en la parte superior de la pantalla. Pulse el icono de inicio para comenzar la sesión de análisis.

Control de calidad

Los controles QUANTA Flash DGP Screen (vendidos por separado; número de producto de INOVA: 701112), contienen los controles positivos y negativos del QUANTA Flash DGP Screen. Consulte el apartado **Controles QUANTA Flash™ DGP Screen (701112)** de este documento para obtener instrucciones de uso detalladas sobre cómo introducir el valor de la unidad y la desviación estándar de cada control y cómo analizar los controles. Se recomienda analizar los controles una vez cada día en que se utilice el ensayo.

Cálculo de los resultados

Se produce una curva maestra de seis puntos en INOVA para cada nuevo lote de QUANTA Flash DGP Screen. Esta curva logística de cuatro parámetros se codifica mediante el código de barras de cada cartucho de reactivos. Tras calibrar un cartucho de reactivos, se utilizará un curva de trabajo específica del dispositivo para convertir las RLU a CU. La reactividad del anticuerpo para DGP puede entonces clasificarse según la tabla siguiente.

Reactividad	**CU**
Negativo	<20
Positivo débil	20-30
Positivo	>30

La reactividad expresada en CU está directamente relacionada con la titulación del autoanticuerpo en las muestras de paciente. Los aumentos y disminuciones de las concentraciones de anticuerpos de pacientes se reflejarán en un correspondiente aumento o disminución de las CU, que es proporcional a la cantidad de anticuerpo.

El rango notificable del ensayo va de 0,5 CU a 1461,8 CU. Si el resultado de un paciente es inferior a 0,5 CU, el sistema BIO-FLASH indicará “< 0,5 CU”. Dado que este valor es inferior a 20 CU, se considera un resultado negativo. Si el resultado de un paciente es superior a 1461,8 CU, el sistema BIO-FLASH indicará “> 1461,8 CU”. Este valor se considera un resultado positivo. El software BIO-FLASH dispone de una opción denominada «Reanálisis automático». Si esta opción está seleccionada, el instrumento volverá a analizar de manera automática cualquier muestra con un resultado superior a 1461,8 CU diluyéndola nuevamente según un factor de 10 y calculará las CU utilizando este factor de dilución adicional.

Interpretación de los resultados

El ensayo QUANTA Flash permite detectar pequeñas diferencias en las poblaciones de pacientes. Cada laboratorio debe determinar su propio rango normal basándose en los controles y la población de pacientes que utilice, de acuerdo con los procedimientos específicos que establezca.

Es recomendable que los resultados notificados por el laboratorio incluyan esta información: “Los siguientes resultados se han obtenido mediante el inmunoensayo por quimioluminiscencia QUANTA Flash DGP Screen de INOVA. Los valores obtenidos con métodos de ensayo de otros fabricantes pueden no ser intercambiables. La magnitud de los niveles de anticuerpos obtenidos no siempre puede correlacionarse con un título de punto final.”

Limitaciones del procedimiento

1. No todos los pacientes con enfermedad celíaca o dermatitis herpetiforme son positivos para anticuerpos IgG o IgA anti-DGP.
2. Los resultados de este análisis deben utilizarse junto con resultados clínicos y otros análisis serológicos.
3. Si no se mezclan correctamente los reactivos antes del primer uso, pueden obtenerse resultados erróneos.
4. Las características de rendimiento de este ensayo no se han establecido para sustratos distintos del suero.

Valores esperados

El límite de detección del ensayo se ha determinado analizando 446 muestras caracterizadas clínicamente (extracciones simples en pacientes claramente positivos o negativos a la presencia de enfermedad celíaca y que no seguían ninguna dieta sin gluten). Estas muestras (117 clínicamente positivas y 329 clínicamente negativas) se han utilizado para ajustar el límite de detección a 20 CU a fin de optimizar la sensibilidad y especificidad en los valores 86,3% y 96,0%, respectivamente, en este grupo de preparación del análisis.

Rango de referencia

Los niveles de anticuerpos IgA e IgG anti-DGP se analizaron con el QUANTA Flash DGP Screen, en un grupo de 351 individuos aparentemente sanos y donantes de sangre normales (172 hombres y 179 mujeres, con edades de 6 meses a 82 años, una edad media de 32 años y una mediana de edad de 33 años). Con un límite de detección de 20 CU, 7 muestras (el 2,0%) dieron positivo en el QUANTA Flash DGP Screen. La concentración media fue de 3,8 CU y los valores oscilaron entre <0,5 y 358,8 CU.

Sensibilidad y especificidad clínicas

El estudio de validación clínica contó con 30 muestras celíacas procedentes de la biblioteca de sueros de INOVA (7 de ellas con deficiencia selectiva de IgA), 71 controles sin celiaquía y 68 muestras procedentes de un seminario sobre tTG (18 controles con EC y 50 sin EC). Un estudio externo independiente contó con 93 muestras celíacas y 98 controles con la enfermedad. Las muestras se analizaron con el CIA de QUANTA Flash DGP Screen. Los resultados se procesaron por separado para calcular la sensibilidad y especificidad para EC (n = 141) y DH (n = 25), utilizando la misma población de control (n = 219).

Sensibilidad y especificidad clínicas del ensayo QUANTA Flash DGP Screen en la EC:

N = 360		Diagnóstico			Análisis (intervalo de confianza: 95%)
		EC	Sin EC	Total	
QUANTA Flash™ DGP Screen	Positivo	121	4	125	Sensibilidad: 85,8% (78,9-91,1%)
	Negativo	20	215	235	Especificidad: 98,2% (95,4-99,5%)
	Total	141	219	360	

Sensibilidad y especificidad clínicas del ensayo QUANTA Flash DGP Screen en la DH:

N = 244		Diagnóstico			Análisis (intervalo de confianza: 95%)
		DH	Sin DH	Total	
QUANTA Flash™ DGP Screen	Positivo	17	4	21	Sensibilidad: 68,0% (46,5-85,1%)
	Negativo	8	215	223	Especificidad: 98,2% (95,4-99,5%)
	Total	25	219	244	

Distribución de las poblaciones de control, con y sin enfermedad, utilizadas en el estudio de validación y en el rango de referencia:

Grupo de pacientes	**N**	**Positivo**	**Positive (%)**
Colitis ulcerosa	9	0	0%
Enfermedad de Crohn	17	0	0%
Enfermedad inflamatoria intestinal (sin especificar)	5	0	0%
Infección por *H. pylori*	27	2	7,4%
Otras enfermedades gastrointestinales	11	0	0%
Alergia alimentaria	9	0	0%
Diabetes de tipo 1	14	0	0%
Enfermedades reumáticas sistémicas (varias)	12	0	0%
Enfermedad tiroidea autoinmunitaria	40	0	0%
Hepatitis vírica	13	0	0%
Enfermedad hepática autoinmunitaria	5	0	0%
Controles sin EC (sin especificar)	50	2	4,0%
Total	**219**	**4**	**1,8%**

Comparación de métodos con un ensayo comercializado con el mismo fin

Las muestras usadas en la comparación de métodos fueron las de los estudios de validación clínica (pacientes con celiaquía y dermatitis herpetiforme, otros controles con enfermedad y donantes de sangre normales) que se encontraban dentro del rango notificable del ensayo. Dichas muestras se analizaron mediante el QUANTA Flash DGP Screen y un ELISA destinado al mismo fin.

Comparación de métodos (N = 228)		ELISA de DGP Screen			Concordancia (%) (intervalo de confianza: 95%)
		Positivo	Negativo	Total	
QUANTA Flash™ DGP Screen CIA	Positivo	30	6*	36	Conc. pos. = 85,7% (69,7-95,2%)
	Negativo	5**	187	192	Conc. neg. = 96,9% (93,4-98,9%)
	Total	35	193	228	Conc. total = 95,2% (91,5-97,6%)

* A un paciente se le diagnostica celiaquía, otro paciente (un control negativo procedente de un seminario sobre tTG) también da positivo en un CIA h-tTG IgA, y un tercero presentó sospecha de celiaquía sin diagnóstico. Las tres muestras restantes proceden de donantes de sangre normales.

** Tres muestras proceden de donantes de sangre normales, mientras que las dos restantes son controles negativos procedentes de un seminario sobre tTG

Precisión y reproducibilidad

La precisión del ensayo QUANTA Flash DGP Screen se ha evaluado analizando 7 pacientes según el documento EP5-A2 del CLSI; la tabla siguiente resume los datos obtenidos:

			Dentro de la sesión de análisis		Entre distintas sesiones		Entre distintos días		Total	
Muestra	N	Media (CU)	DE	% CV	DE	% CV	DE	% CV	DE	% CV
1	84	1354,7	57,7	**4,3%**	29,0	**2,1%**	29,4	**2,2%**	70,9	**5,2%**
2	84	85,5	3,2	**3,7%**	2,1	**2,5%**	0,0	**0,0%**	3,5	**4,1%**
3	84	46,7	1,8	**3,9%**	1,1	**2,4%**	0,2	**0,4%**	2,1	**4,6%**
4	84	13,4	0,4	**3,0%**	0,2	**1,9%**	0,1	**0,9%**	0,5	**3,6%**
5	84	21,7	0,8	**3,8%**	0,6	**2,7%**	0,1	**0,5%**	1,0	**4,7%**
6	84	24,1	1,0	**4,3%**	0,8	**3,3%**	0,0	**0,0%**	1,2	**5,0%**
7	84	26,9	1,0	**3,9%**	0,6	**2,1%**	0,0	**0,0%**	1,0	**3,9%**

Límites de detección; rangos lineales y notificables

El límite inferior de detección del ensayo, de acuerdo con el documento EP17-A del CLSI, es de 570 RLU, aproximadamente, lo que equivale a 0,04 CU, muy por debajo del valor inferior al rango notificable. El límite superior de detección aproximado es de 1.113.000 RLU, que está aproximadamente un 71% por encima del valor superior del rango notificable. El rango notificable completo, que va de 0,5 CU a 1461,8 CU, es lineal. Se ha realizado un estudio de linealidad siguiendo el documento EP6-A del CLSI y los datos obtenidos son los siguientes:

Muestra	**Rango del análisis (CU)**	**Pendiente (IC del 95%)**	**Intersección de Y (IC del 95%)**	**R^2**
1	De 1,6 a 31,7	0,96 (de 0,92 a 1,00)	0,08 (de -0,65 a 0,81)	1,00
2	De 1,4 a 67,7	0,86 (de 0,84 a 0,89)	1;26 (de 0,40 a 2,12)	1,00
3	De 4,9 a 292,8	0,96 (de 0,92 a 1,00)	1,68 (de -4,49 a 7,86)	1,00
4	De 16,4 a 561,0	0,86 (de 0,83 a 0,89)	-0,37 (de -9,71 a 8,97)	1,00
5	De 30,4 a 1.271,2	0,92 (de 0,90 a 0,94)	-3,11 (de -16,59 a 10,37)	1,00
6	De 183,8 a 1.470,7	1,04 (de 0,97 a 1,10)	6,39 (de -67,03 a 54,25)	1,00

QUANTA Flash™ DGP Screen **701111**
Calibradores

Para uso diagnóstico *In Vitro*

Uso previsto

Los calibradores QUANTA Flash DGP Screen están destinados a utilizarse con el inmunoensayo por quimioluminiscencia (CIA) QUANTA Flash DGP Screen en el instrumento BIO-FLASH. Cada calibrador establece un punto de referencia para la curva de trabajo utilizada en la determinación de los valores de la unidad de quimioluminiscencia (CU) para la medición de anticuerpos IgG e IgA anti-DGP en suero.

Resumen y principios del procedimiento

El CIA de QUANTA Flash DGP Screen emplea una curva maestra predefinida específica de cada lote que se guarda en el código de barras del cartucho de reactivos. Los calibradores QUANTA Flash DGP Screen están diseñados para generar una curva de trabajo específica para el instrumento a partir de los parámetros de la curva maestra, con un punto de decisión basado en las características operativas y en la evaluación clínica del CIA de QUANTA Flash DGP Screen. Los calibradores se analizan en varios instrumentos con diversos lotes de reactivos antes de efectuar la asignación de valores.

Reactivos

1. Calibrador 1 de QUANTA Flash DGP Screen: Dos (2) tubos etiquetados mediante código de barras con tampón que contiene anticuerpos de suero humano anti-DGP, prediluido, preparado para ser utilizado y de 0,3 ml de volumen (con tampón, estabilizantes de proteínas y conservantes).

2. Calibrador 2 de QUANTA Flash DGP Screen: Dos (2) tubos etiquetados mediante código de barras con tampón que contiene anticuerpos de suero humano anti-DGP, prediluido, preparado para ser utilizado y de 0,3 ml de volumen (con tampón, estabilizantes de proteínas y conservantes).

Advertencias

1. Los calibradores contienen una sustancia química (cloranfenicol al 0,02%) que está clasificada como cancerígena por el Estado de California.

2. Se utiliza azida sódica como conservante. La azida sódica es una sustancia venenosa y puede resultar tóxica si se ingiere o si se absorbe a través de la piel o los ojos. La azida sódica puede reaccionar con el plomo o el cobre de las tuberías y formar azidas metálicas potencialmente explosivas. Si utiliza las pilas de lavado para eliminar reactivos, aclare con abundante cantidad de agua para evitar la formación de azidas metálicas.

3. Todo el material de origen humano usado en la preparación de los controles para este producto ha sido analizado y ha producido un resultado negativo con respecto a la presencia de anticuerpos frente a VIH, HBsAg y el VHC, según métodos aprobados por la FDA. Sin embargo, ningún método de análisis puede ofrecer plenas garantías de la ausencia de VIH, VHB, VHC u otros agentes infecciosos. Por ello, los calibradores QUANTA Flash DGP Screen deben manipularse como si se tratara de material potencialmente infeccioso.[21]

4. Utilice un equipo de protección personal adecuado cuando trabaje con los reactivos suministrados.

5. Los vertidos de reactivos deben limpiarse inmediatamente. Cumpla todas las normas estatales y locales sobre protección del medio ambiente para la eliminación de residuos.

Precauciones

1. Este producto está destinado a uso diagnóstico *In Vitro*.
2. Los calibradores QUANTA Flash DGP Screen deben utilizarse con el ensayo QUANTA Flash DGP Screen.
3. No transfiera los reactivos de los calibradores a tubos secundarios. Los códigos de barras de los tubos son utilizados por el instrumento para ajustar los calibradores al tipo de ensayo adecuado.
4. Los tubos de los calibradores, una vez abiertos, pueden utilizarse durante un máximo de 8 horas o 4 calibraciones; transcurrido este tiempo, los reactivos deben desecharse.
5. Puede producirse contaminación química de los reactivos como consecuencia de un lavado o aclarado inadecuados del instrumento. Los residuos de sustancias químicas habituales en los laboratorios, como formol, lejía, etanol o detergente, pueden interferir en el análisis. Asegúrese de limpiar siempre el instrumento según el procedimiento recomendado, que está indicado en el manual del operador del BIO-FLASH.

Condiciones de almacenamiento

1. Guarde los calibradores no abiertos a 2-8°C. No los congele. Los reactivos permanecen estables hasta la fecha de caducidad si se almacenan y manipulan como está indicado.
2. Los calibradores abiertos deben desecharse al cabo de 8 horas.

Procedimiento

1. Cada nuevo lote de cartucho de reactivos debe calibrarse antes del primer uso. El software no permitirá usar un lote nuevo hasta que se calibre.
2. Cada calibrador debe mezclarse suavemente antes de utilizarlo para garantizar su homogeneidad. Evite la formación de espuma, ya que las burbujas pueden interferir en la detección del nivel de líquido de los instrumentos. Destape los dos tubos del calibrador y colóquelos en una gradilla de muestras, con los códigos de barras orientados hacia delante a través de las aberturas de la gradilla. Coloque la gradilla de muestras en la bandeja de muestras del instrumento BIO-FLASH y cierre la puerta. El instrumento leerá los códigos de barras de los tubos del calibrador e identificará el cartucho de reactivos adecuado. Consulte el manual del operador suministrado con el sistema BIO-FLASH para obtener instrucciones de funcionamiento detalladas sobre el analizador por quimioluminiscencia BIO-FLASH y el software BIO-FLASH.
3. El instrumento analizará cada calibrador por triplicado. Una vez analizados los calibradores, el software solicitará la validación de la calibración. En la pantalla **Resumen del instrumento**, haga clic en botón **Seleccionar más opciones – Ctrl-M (▼)**, señalado con una flecha. Seleccione **Calibración Ctrl-F3**. En la ventana Calibración, marque el ensayo deseado y haga clic en **Detalles**.
4. En la ventana **Detalles de calibración** que se abrirá, seleccione la calibración que acaba de efectuar. La curva maestra se visualizará como una línea discontinua y la nueva curva maestra, como una línea continua. Si los resultados de la calibración son válidos, en la parte inferior izquierda de la pantalla aparecerá un botón de validación. Haga clic en el botón **Validar calibración**.
5. Una vez validada la calibración, el lote de cartuchos de reactivos en el que se ha efectuado la calibración estará preparado para utilizarse. Se recomienda analizar los controles QUANTA Flash DGP Screen (vendidos por separado; número de producto: 701112) tras calibrar un lote de cartuchos de reactivos.

Trazabilidad

Actualmente, no existe ningún estándar internacional reconocido para la medición de anticuerpos IgG o IgA anti-DGP (péptidos de gliadina desamidada).

Limitaciones

Estos calibradores están diseñados para realizar 4 calibraciones. El tiempo máximo durante el que los tubos del calibrador pueden permanecer destapados una vez cargados en el instrumento es 8 horas. Si los calibradores destapados permanecen en el instrumento durante más de 8 horas, deben desecharse. Si se utilizan los mismos tubos de calibrador para más de 4 calibraciones y/o durante más de 8 horas, es posible que la calibración del ensayo sea incorrecta, lo que producirá resultados erróneos.

QUANTA Flash™ DGP Screen **701112**

Controles

Para uso diagnóstico *in vitro*

Uso previsto

Los controles QUANTA Flash DGP Screen están destinados al control de calidad de los análisis efectuados mediante el kit de inmunoensayo por quimioluminiscencia (CIA) QUANTA Flash DGP Screen en un instrumento BIO-FLASH.

Resumen y principios del procedimiento

Los controles QUANTA Flash DGP Screen están constituidos por un control negativo y un control positivo. Cada uno de ellos contiene una cantidad diferente de anticuerpos anti-DGP. El control negativo está diseñado para evaluar la precisión y la exactitud del ensayo a niveles muy bajos de anticuerpos. El control positivo está diseñado para evaluar la precisión y la exactitud del ensayo a niveles de anticuerpos de moderados a altos.

Reactivos

1. Control negativo de QUANTA Flash DGP Screen: Dos (2) tubos etiquetados mediante código de barras con tampón que contiene anticuerpos de suero humano anti-DGP, prediluido, preparado para ser utilizado y de 0,5 ml de volumen (con tampón, estabilizantes de proteínas y conservantes).
2. Control positivo de QUANTA Flash DGP Screen: Dos (2) tubos etiquetados mediante código de barras con tampón que contiene anticuerpos de suero humano anti-DGP, prediluido, preparado para ser utilizado y de 0,5 ml de volumen (con tampón, estabilizantes de proteínas y conservantes).

Advertencias

1. Los controles contienen una sustancia química (cloranfenicol al 0,02%) que está clasificada como cancerígena por el Estado de California.
2. Se utiliza azida sódica como conservante. La azida sódica es una sustancia venenosa y puede resultar tóxica si se ingiere o si se absorbe a través de la piel o los ojos. La azida sódica puede reaccionar con el plomo o el cobre de las tuberías y formar azidas metálicas potencialmente explosivas. Si utiliza las pilas de lavado para eliminar reactivos, aclare con abundante cantidad de agua para evitar la formación de azidas metálicas.
3. Todo el material de origen humano usado en la preparación de los controles para este producto ha sido analizado y ha producido un resultado negativo con respecto a la presencia de anticuerpos frente a VIH, HBsAg y el VHC, según métodos aprobados por la FDA. Sin embargo, ningún método de análisis puede ofrecer plenas garantías de la ausencia de VIH, VHB, VHC u otros agentes infecciosos. Por ello, los controles QUANTA Flash DGP Screen deben manipularse como si se tratara de material potencialmente infeccioso.[21]
4. Utilice un equipo de protección personal adecuado cuando trabaje con los reactivos suministrados.
5. Los vertidos de reactivos deben limpiarse inmediatamente. Cumpla todas las normas estatales y locales sobre protección del medio ambiente para la eliminación de residuos.

Precauciones

1. Este producto está destinado a uso diagnóstico *in vitro*.
2. Los controles QUANTA Flash DGP Screen deben utilizarse con el ensayo QUANTA Flash DGP Screen.
3. No transfiera los reactivos de los controles a tubos secundarios. Los códigos de barras de los tubos son utilizados por el instrumento para identificar al control.
4. Cada tubo de control, una vez abierto, es válido para 15 usos y puede permanecer como máximo **10 minutos** en el instrumento **en cada uso**.
5. Puede producirse contaminación química de los reactivos como consecuencia de un lavado o aclarado inadecuados del instrumento. Los residuos de sustancias químicas habituales en los laboratorios, como formol, lejía, etanol o detergente, pueden interferir en el análisis. Asegúrese de limpiar siempre el instrumento según el procedimiento recomendado, que está indicado en el manual del operador del BIO-FLASH.

Condiciones de almacenamiento

1. Guarde los controles no abiertos a 2-8°C. No los congele. Los reactivos permanecen estables hasta la fecha de caducidad si se almacenan y manipulan como está indicado.
2. Los controles abiertos son válidos para 15 usos y pueden permanecer como máximo **10 minutos** en el instrumento en cada uso. El tiempo total durante el que los tubos de control pueden permanecer sin tapar en el instrumento es de 2,5 horas, o 10 minutos por uso. Si los controles se dejan destapados en el instrumento por más de 2,5 horas en total, los controles que acumulen un tiempo total superior a 2,5 horas deberán desecharse. Si se utiliza el mismo tubo de control para más de 15 usos y/o durante más de 2,5 horas en total, pueden producirse resultados erróneos.
3. Para conseguir una estabilidad óptima, retire los controles del sistema inmediatamente después de tomar las muestras y almacénelos a 2-8°C, tapados y en el vial original.

Procedimiento

Para crear nuevos materiales de control de calidad para el ensayo DGP Screen:

1. Antes de utilizar los controles QUANTA Flash DGP Screen por primera vez en el instrumento, introduzca en el software el nombre, el lote, las réplicas, la caducidad, el valor (o dosis) y la DE objetivo.
2. En la pantalla **Resumen del instrumento**, haga clic en el botón **Seleccionar más opciones – Ctrl-M (▼)**, señalado con una flecha. Seleccione **QC Ctrl-F2**. Marque el ensayo DGP Screen en la columna de la izquierda. A continuación, haga clic en el botón **Nuevo material de control de calidad**.
3. Cada grupo de control incluye una hoja de datos específica para cada lote. En primer lugar, introduzca el nombre, el número de lote y la caducidad de esta hoja de datos en el software. A continuación, haga clic en el botón **Añadir ensayo**. En ventana que se abrirá, asegúrese de que está marcada la casilla **Mostrar todos los ensayos**. Seleccione el ensayo DGP Screen de la lista y haga clic en **Añadir**. Por último, introduzca la dosis objetivo y la DE objetivo. Haga clic en **Crear**. Realice este proceso para ambos controles.

Para crear un nuevo lote para los materiales de control de calidad existentes:

1. Antes de utilizar un nuevo lote de controles QUANTA Flash DGP Screen por primera vez, introduzca en el software el lote, la caducidad, el valor (o dosis) y la DE objetivo.
2. En la pantalla **Resumen del instrumento**, haga clic en el botón **Seleccionar más opciones – Ctrl-M (▼)**, señalado con una flecha. Seleccione **QC Ctrl-F2**. Marque el ensayo DGP Screen en la columna de la izquierda. A continuación, seleccione el material de control apropiado en la derecha (“DGPSN” para el control negativo o bien “DGPSP” para el control positivo). Haga clic en el botón **Nuevo lote de control de calidad**.

3. Cada grupo de control incluye una hoja de datos específica para cada lote. Introduzca la información de esta hoja de datos en el software. Dicha información debe comprender el número de lote, la caducidad, la dosis objetivo y la DE objetivo. Haga clic en **Guardar**. Realice este proceso para ambos controles.

Se recomienda utilizar los controles QUANTA Flash DGP Screen una vez los días en que se utilizará el ensayo.

Cada control debe mezclarse suavemente antes de utilizarlo para garantizar su homogeneidad. Evite la formación de espuma, ya que las burbujas pueden interferir en la detección del nivel de líquido de los instrumentos. Destape los dos tubos del control y colóquelos en una gradilla de muestras, con los códigos de barras orientados hacia delante a través de las aberturas de la gradilla. Coloque la gradilla de muestras en la bandeja de muestras del instrumento BIO-FLASH y cierre la puerta. El instrumento leerá los códigos de barras de los tubos del control e identificará el cartucho de reactivos adecuado. Consulte el manual del operador suministrado con el sistema BIO-FLASH para obtener instrucciones de funcionamiento detalladas sobre el analizador por quimioluminiscencia BIO-FLASH y el software BIO-FLASH.

Trazabilidad

Actualmente, no existe ningún estándar internacional reconocido para la medición de anticuerpos IgG o IgA anti-DGP (péptidos de gliadina desamidada).

Limitaciones

Estos controles están diseñados para 15 usos. La etiqueta de cada tubo de control posee una fila de 15 casillas que pueden marcarse para controlar el número de usos. El tiempo máximo durante el que los tubos de control pueden permanecer destapados una vez cargados en el instrumento es de 2,5 horas o 10 minutos por uso. Los controles destapados que permanezcan en el instrumento durante más de 2,5 horas en total deben desecharse. Si se utilizan los mismos tubos de control para más de 15 usos y/o durante más de 2,5 horas en total, pueden producirse resultados erróneos.

Referencias bibliográficas

1. Trier JS: Celiac Sprue. New England Journal of Medicine 325: 1709-1719, 1991.
2. Troncone R and Ferguson A: Antigliadin antibodies. J Pediatr Gastroenterol Nutr 12: 150-158, 1991.
3. Fasano A, Berti I, Gerarduzzi T, Not T, Colletti RB, Drago S, Elitsur Y, Green PH, Guandalini S, Hill ID, Pietzak M, Ventura A, Thorpe M, Kryszak D, Fornaroli F, Wasserman SS, Murray JA, Horvath K: Prevalence of celiac disease in at-risk and not-at-risk groups in the United States: a large multicenter study. Arch Intern Med. 163(3): 286-292, 2003.
4. Dubé C, Rostom A, Sy R, Cranney A, Saloojee N, Garritty C, Sampson M, Zhang L, Yazdi F, Mamaladze V, Pan I, Macneil J, Mack D, Patel D, Moher D: The prevalence of celiac disease in average-risk and at-risk Western European populations: a systematic review. Gastroenterology 128(4 Suppl 1): S57-67, 2005.5. Working Group of European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition. Revised criteria for diagnosis of coeliac disease. Arch Dis Child 65: 909-911, 1990.
6. McMillan SA, Haughton DJ, et al.: Predictive value for coeliac disease of antibodies to gliadin, endomysium and jejunum in patients attending for jejunal biopsy. BMJ 303: 1163-1165, 1991.
7. Sugai E, Moreno ML et al: Celiac disease serology in patients with different pre-test probabilities: Is biopsy avoidable? World J Gastroenterol 16: 3144-52, 2010.
8. Burgin-Wolff A, Gaze H, et al.: Antigliadin and antiendomysium antibody determination for coeliac disease. Arch Dis Child 66: 941-947, 1991.
9. Osman AA, et al.: B-Cell epitopes of gliadin. Clin Exp Immunol 121: 248-254, 2000.
10. Aleanzi M, et al.: Celiac disease: Antibody recognition against native and selectively deamidaion gliadin peptides. Clinical Chemistry 47: 2023-2028, 2001.
11. Schwertz E, et al.: Serologic assay based on gliadin-related nonapeptides as a highly sensitive and specific diagnostic aid in celiac disease. Clinical Chemistry 50: 2370-2375, 2004.
12. Fleckenstein B, Qiao S-W, et al: Molecular characterization of covalent complexes between tissue transglutaminase and gliadin peptides. J Biol Chem 279: 17607-16, 2004.
13. Prince HE: Evaluations of the INOVA Diagnostics Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Kits for Measuring Serum Immunoglobulins G (IgG) and IgA to Deamidated Gliadin Peptides. Clinical and Vaccine Immunology 13: 150-151, 2006.
14. Sugai E, et al.: Accuracy of Testing Antibodies to Synthetic Gliadin-Related Peptides in Celiac Disease. Clinical Gastroenterology and Hepatology 4: 1112-1117, 2006.
15. Kurppa K, Lindfors K, et al: Antibodies against deamidated gliadin peptides in early stage celiac disease. J Clin Gastroenterol 2010 (epub ahead of print).
16. Volta U, Granito A, et al: Deamidated gliadin peptide antibodies as a routine test for celiac disease. J Clin Gastroenterol 44: 186-90 (2010).
17. Collin P, et al.: Selective IgA deficiency and coeliac disease. Scand Journal Gastroenterology 27: 367-371, 1992.
18. Smecuol E, et al.: Permeability, Zonulin Production, and Enteropathy in Dermatitis Herpetiformis. Clinical Gastroenterlogy and Hepatology 3: 335-341, 2005.
19. Beutner EH, et al.: Sensitivity and Specificity of IgA-class antiendomysial antibodies for dermatitis herpetiformis and findings relevant to their pathogenic significance. Journal of the American Academy of Dermatology 15: 464-473, 1986.
20. Jaskowski TD, Donaldson MR et al: Novel screening assay performance in pediatric celiac disease and adult dermatitis herpetiformis. JPGN 51: 19-23, 2010.
21. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health, Fifth Edition, 2007.

Símbolos utilizados

Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

Consulte las instrucciones de uso

Límite de temperatura

No reutilizar

Riesgo biológico

Código de lote

Número de catálogo

Utilizar antes del tiempo indicado

Fabricante

Representante autorizado

Contenido suficiente para n análisis

Control positivo

Control negativo

Calibrador 1

Calibrador 2

Caja de cartón reciclable

Mantener en esta posición

QUANTA Flash es una marca comercial de INOVA Diagnostics Inc. BIO-FLASH es una marca comercial registrada de Biokit S. A. © 2011

Fabricado por:
INOVA Diagnostics, Inc.
9900 Old Grove Road
San Diego, CA 92131
Estados Unidos de América

Servicio técnico (nacional): 877-829-4745
Servicio técnico (internacional): 00+ 1 858-805-7950
support@inovadx.com

Representante autorizado en la UE:
Medical Technology Promedt Consulting GmbH
Altenhofstrasse 80
D-66386 St. Ingbert, Alemania
Tel.: +49-6894-581020
Fax: +49-6894-581021
www.mt-procons.com

621110ESP

Diciembre 2011
Revisión 2

CE